

# 左旋千金藤立定对血压和对 $\alpha$ -肾上腺素受体激动剂 KCl 及 $\text{CaCl}_2$ 引起主动脉条收缩的影响<sup>1</sup>

沈德莉<sup>2</sup>、金国章、贺毓芳、张振德、孙周<sup>2</sup> (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031, 中国)  
鲁映青、杨藻宸 (上海医科大学, 上海 200032, 中国)

Effect of (-)-stepholidine on blood pressure and  $\alpha$ -adrenoceptor agonists-, KCl- and  $\text{CaCl}_2$ -evoked contractions of aortic strips<sup>1</sup>

SHEN De-Li<sup>2</sup>, JIN Guo-Zhang, HE Yu-Fang, ZHANG Zhen-De, SUN Zhou<sup>2</sup> (*Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China*) LU Ying-Qing, YANG Zao-Chen (*Department of Pharmacology, Shanghai Medical University, Shanghai 200032, China*)

**ABSTRACT** *iv* (-)-SPD lowered the blood pressure in anesthetized rat, the  $\text{ED}_{50}$  value was  $5.1 \pm 2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . In the experiments of rat and rabbit aortic strips, (-)-SPD  $0.3-100.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  inhibited the contraction initiated by clonidine ( $\alpha_2$ ) and phenylephrine ( $\alpha_1$ ) and shifted the dose-response curve to the right parallelly without change in maximum response. The inhibitory ratio of (-)-SPD acting on  $\alpha_2/\alpha_1$  adrenergic receptors was about 7.2, and (-)-SPD thus was predominant inhibition on  $\alpha_2$  adrenergic receptors. In the experiment of aortic strips from reserpinized rabbits, the inhibition of (-)-SPD on contraction evoked by clonidine was diminished markedly. The results suggest that (-)-SPD stimulated mainly the  $\alpha_2$ -adrenergic receptors of presynaptic nerve endings. Moreover (-)-SPD  $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  inhibited the release of intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  initiated by NE. (-)-SPD  $3-30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  blocked the voltage-dependent  $\text{Ca}^{2+}$  channel.

**KEY WORDS** stepholidine; antihypertensive agents; thoracic aorta; renal artery; reserpine

**摘要** *iv* (-)-SPD 引起麻醉大鼠血压下降,  $\text{ED}_{50}$  为

Received 1990 Mar 6 Accepted 1991 Jul 4  
<sup>1</sup> Supported by the National New Drug Foundation (No.1987-075)

<sup>2</sup> Now in Department of Pharmacology, Jiangxi Medical College, Nanchang 330006, China

$5.1 \pm 2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , (-)-SPD  $0.3-100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  拮抗 Clo 和 Phe 所致大鼠、兔主动脉条收缩。利血平化兔主动脉明显减弱(-)-SPD 拮抗 Clo 引起血管平滑肌的收缩, 提示(-)-SPD 优先作用于神经末梢突触前部位  $\alpha_2$  受体。(-)-SPD  $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  抑制 NE 所致的细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  释放, 增大剂量  $3-30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  抑制细胞电位依赖性  $\text{Ca}^{2+}$  通道。

**关键词** 千金藤立定; 降压剂; 胸主动脉; 肾动脉; 利血平

左旋千金藤立定((-)-stepholidine, (-)-SPD)是从云南防己科植物河谷地不容(*Stephania intermedia* LO)中分离出来的生物碱<sup>(1)</sup>, 属于四氢原小檗碱同类物(tetrahydroprotoberberines, THPB), 业已证明 THPB 是新型多巴胺(DA)受体阻滞剂<sup>(2-4)</sup>, 其中(-)-SPD 是导向化合物, 作用最强, 还有 DA 受体激动作用, 因此值得重视<sup>(2,5,6)</sup>, 以后又证明(-)-SPD 能降低麻醉动物的血压和外周阻力, 其降压机制主要与激动突触前  $\alpha_2$  受体有关<sup>(7-9)</sup>。本文进一步用离体血管平滑肌标本探讨(-)-SPD 的降压作用及与  $\alpha$  受体和  $\text{Ca}^{2+}$  通道的作用关系。

## MATERIALS

(-)-SPD 是中国科学院上海药物研究所提供的纯品( $\text{mp } 161-2^\circ\text{C}$ ,  $[\alpha]_D^{25} -440^\circ$  吡啶)。可乐定盐酸盐(clonidine hydrochloride, Clo, 丹东制药厂), 新福林(phenylephrine, Phe, 上海第十制药厂), 育亨宾(yohimbine, Yoh, Sigma 公司), 哌唑嗪(prazosin, Pra, 北京制药工业研究所), 去甲肾上腺素酒石酸盐(norepinephrine bitartrate, NE, 天丰药厂), 利

血平(reserpine, 上海医科大学红旗制药厂), 维拉帕米(verapamil, Ver, 天津和平制药厂).

METHODS AND RESULTS

(-)-SPD 对麻醉大鼠的急性降压作用

Wistar 大鼠 20 只, ♀♂兼用, 体重 275±s 40 g, ig 戊巴比妥钠 40 mg·kg<sup>-1</sup> 麻醉, 一侧颈总动脉连接换能器, 记录血压于 SJ-42 型四道仪上, 从一侧后肢隐静脉给药, 20 只大鼠给药前的平均血压为 17.2±s 1.8kPa (129±s 13.7 mm Hg). 拟定降压作用的降压值为 6 kPa (45 mm Hg), 大于此值为有降压效应<sup>[10]</sup>. 将大鼠分为 4 组, 每组 5 只, iv (-)-SPD 1.0, 3.0, 10.0 和 30.0 mg·kg<sup>-1</sup>, 均引起血压下降, 降压效应随剂量增加而增强, 持续时间随剂量增加而延长(11.2, 35.8, 44.2, 68.8 min), 按 Finney 法算出(-)-SPD 降压作用的 ED<sub>50</sub> 为 5.1 mg·kg<sup>-1</sup> (2.5-10.5 mg·kg<sup>-1</sup>, 95% fiducial limits).

(-)-SPD 对离体胸主动脉条 α 受体的影响 Wistar 大鼠, ♀♂兼用, 击昏后取胸主动脉制成 2×10 mm 螺旋肌条, 置于含 5 ml Krebs 液浴槽中, 通以 95% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub> (37±0.5℃, pH 7.3-7.4), 主动脉条的静息负

荷 1.5 g, 每 20 min 换液 1 次, 肌条收缩通过张力换能器记录于 XWT-204 型台式自动平衡记录仪, 稳定 2 小时后给药. 兔, ♂, 取其主动脉条为 2×25 mm, 用 8 ml Krebs 氏液, 负荷 2 g, 其余同上.

1 (-)-SPD 抑制 Phe 所致大鼠胸主动脉条的收缩反应 Phe 为 α<sub>1</sub> 受体激动剂, 用累积浓度加药法, 作用浓度为 0.01 nmol·L<sup>-1</sup> - 1 mmol·L<sup>-1</sup> (-11 至 -3 log mol·L<sup>-1</sup>), 作 Phe 的量-效反应的对照曲线, 然后冲洗 4 次, 待肌张力恢复到原有水平, 再依次加入 (-)-SPD 1.0, 3.0, 10.0 μmol·L<sup>-1</sup> 或 Pra 0.1, 1.0, 10.0 nmol·L<sup>-1</sup>, 浸浴 15 min, 测定(-)-SPD 或 Pra 对 Phe 引起血管收缩的量-效反应曲线的影响. 在每个离体标本测试 4 种效应, 包括 Phe 的对照收缩效应和每种药物 3 个不同浓度的拮抗效应, 每个浓度的拮抗试验均为 6 次(n=6). 结果表明(-)-SPD 和 Pra 均使 Phe 收缩作用的量-效曲线平行右移, 而最大收缩反应无明显下降(Fig 1 A), 表现为竞争性拮抗效应. 按文献<sup>[11]</sup>计算 (-)-SPD 和 Pra 的 PA<sub>2</sub> 分别为 6.98 和 11.6, 表明 Pra 的拮抗作用较(-)-SPD 的强 10 000 倍以上.

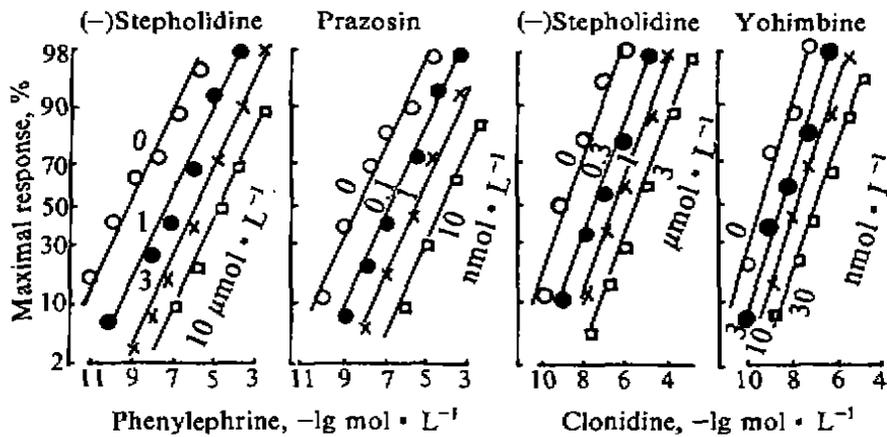


Fig 1. Contractions of phenylephrine and clonidine on rat aortic strips. n=6.

2 (-)-SPD 抑制 Clo 所致大鼠胸主动脉条的收缩反应 Clo 是  $\alpha_2$  受体激动剂, 仿上述方法, 将 Clo 的浓度由  $0.1 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  累加至  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 获得量-效反应曲线, 然后再依次给予 (-)-SPD  $0.3, 1.0$  和  $3.0 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  或 Yoh  $3.0, 10.0, 30.0 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 结果表明由 Clo 引起血管收缩的量-效曲线平行右移, 而最大收缩反应无明显降低 (Fig 1 B), 表现为竞争性拮抗效应, (-)-SPD 的  $pA_2$  为 7.8, Yoh 的  $pA_2$  为 9.27, Yoh 对  $\alpha_2$  受体的阻滞作用为 (-)-SPD 的 27 倍, (-)-SPD 拮抗 Clo 收缩的作用 ( $\alpha_2$ ) 比拮抗 Phe 收缩的作用 ( $\alpha_1$ ) 强 7.2 倍。

3 (-)-SPD 抑制 Clo 和 Phe 所致兔胸主动脉条的收缩作用 仿大鼠离体主动脉条方法, 取兔降主动脉, 剪成两条  $2 \times 25 \text{ mm}$  的螺旋条, 置于含 8 ml Krebs 液的浴槽中, 静息负荷为 2 g, Clo  $1 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  引起兔主动脉条收缩, (-)-SPD  $0.01-100.0 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  对 Clo 的收缩呈浓度依赖性抑制, 当 (-)-SPD 浓度为  $100.0 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 由 Clo 所致的收缩几乎被完全抑制 (Fig 2 A), 然而由 Phe  $1.0 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  所致的兔主动脉条收缩不易被 (-)-SPD 抑制, 只有较大剂量的 (-)-SPD  $100.0 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  才几乎完全抑制 Phe 所致收缩 (Fig 2 B), 表明 (-)-SPD 拮抗  $\alpha_2$  受体激动剂 Clo 作用强于拮抗  $\alpha_1$  受体激动剂 Phe 的作用, 与大鼠胸主动脉条结果一致。

4 (-)-SPD 对利血平化兔胸主动脉条收缩作用的影响 兔 4 只, 在实验前 48 和 24 h 分别 ip 利血平  $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 用凝胶柱分离 NE 和碘试剂氧化荧光法测定 NE 含量<sup>[12]</sup>证明主动脉的 NE 含量下降 97.3%, 应用利血平化兔制成主动脉条进行试验, 结果 (-)-SPD  $1.0-10.0 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  拮抗 Clo 收缩的作用显著减弱 ( $P < 0.01$ , Fig 2), 提示较小剂量 (-)-SPD 对  $\alpha_2$  受体的作用主要发生在神经末

梢突触前部位, 还值得注意的是利血平化未能取消 (-)-SPD  $100.0 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  对 Clo 和 Phe 的拮抗作用 (Fig 2), 提示高浓度 (-)-SPD 存在着另外作用机制, 可能与突触后  $\alpha$  受体或  $\text{Ca}^{2+}$  通道有关。

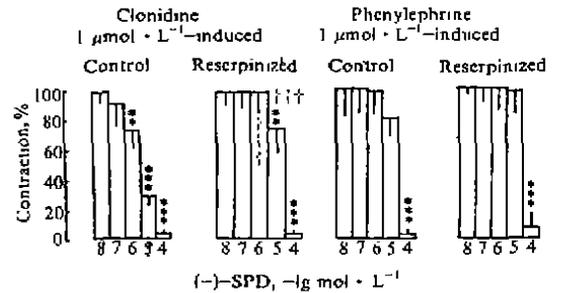


Fig 2. Inhibitory effects of (-)-SPD on clonidine ( $1.0 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) or phenylephrine ( $1.0 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )-induced contraction of aortic strips of control and reserpinized rabbits.  $n = 6$ .  $**P < 0.05$ ,  $***P < 0.01$  vs (-)-SPD;  $+++P < 0.01$  vs control.

### (-)-SPD 对 $\text{Ca}^{2+}$ 通道的影响

1 (-)-SPD 抑制 KCl 所致大鼠胸主动脉条和肾动脉环肌的收缩反应 高  $\text{K}^+$  引起电位依赖性  $\text{Ca}^{2+}$  通道开放, 置主动脉条和肾动脉环肌在 Krebs 液中稳定 2 h, 以累积浓度法作出 KCl 收缩的量-效反应曲线, (-)-SPD  $3.0, 10.0, 30.0 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  使 KCl 的量-效反应曲线右移并压低 (Fig 3), 表现为非竞争性拮抗效应, 主动脉条和肾动脉环肌的  $pD_2^{(11)}$ , 分别为 4.06 和 4.12, 提示 (-)-SPD 对 KCl 引起的电位依赖性  $\text{Ca}^{2+}$  通道有拮抗作用。

2 (-)-SPD 抑制  $\text{CaCl}_2$  引起的大鼠胸主动脉条收缩反应 大鼠主动脉条在 Krebs 液中稳定 2 h 后, 改用无  $\text{Ca}^{2+}$  高  $\text{K}^+$  ( $\text{KCl } 40 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 的 Krebs 液使肌条去极化, 再稳定 20 min, 按累积浓度法加入  $\text{CaCl}_2$  溶液, 引起肌条收缩, 比较给予 (-)-SPD 前后的  $\text{CaCl}_2$  所致收缩的量-效反应曲线, 结果证明 (-)-SPD  $10.0, 30.0 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  使  $\text{CaCl}_2$  所引

起收缩的量-效反应曲线右移并压低(Fig 3), 表现为非竞争性拮抗效应,  $pD_2$ 为 4.47 提示 (-)-SPD 对  $Ca^{2+}$ 引起的主动脉条收缩有拮抗作用。

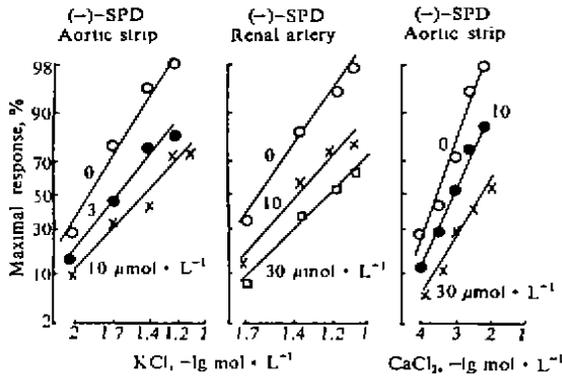


Fig 3. Effects of (-)-SPD on KCl-induced contractions of aortic strips and renal artery ( $n=5$ ) and  $CaCl_2$ -induced contraction of aortic strips ( $n=6$ ) of rats.

3 (-)-SPD 对 NE 引起大鼠胸主动脉条 2 种收缩组份的影响 大鼠胸主动脉条浸于 Krebs 液中 2 h, 加入 NE  $1\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 待肌条收缩达峰值时, 用无  $Ca^{2+}$  Krebs 液冲洗, 在无  $Ca^{2+}$  Krebs 液中稳定 20 min 后, 加入上述浓度 NE 出现快而短暂的收缩反应, 系为 NE 促进细胞内  $Ca^{2+}$ 释放所致(依内源性  $Ca^{2+}$ 收缩)<sup>(13)</sup>。再加入正常 Krebs 液的钙含量 ( $CaCl_2$   $2.5\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 出现慢而持久的收缩, 系为 NE 引起的细胞外  $Ca^{2+}$ 进入细胞内所致(依外源性  $Ca^{2+}$ 收缩, 即受体操纵的  $Ca^{2+}$ 通道)。给予(-)-SPD  $1\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  或 Ver  $1\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  使 NE 的依内源性  $Ca^{2+}$ 收缩从  $65 \pm 9\%$  分别降为  $30 \pm 20\%$ ,  $24 \pm 4\%$ , ( $n=6$ ), 表明(-)-SPD 和 Ver 均能明显抑制 NE 的依内源性  $Ca^{2+}$ 的快速收缩( $P < 0.05$ )。至于依外源性  $Ca^{2+}$ 收缩, 给药前为  $35 \pm 15\%$ , 给予(-)-SPD 或 Ver  $1\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  后, 收缩幅度与给药前相似, 分别为  $38 \pm 13\%$ ,

$41.2 \pm 7\%$  (Fig 4)。这表明(-)-SPD 和 Ver 对依赖外源性  $Ca^{2+}$ 的收缩无明显影响。

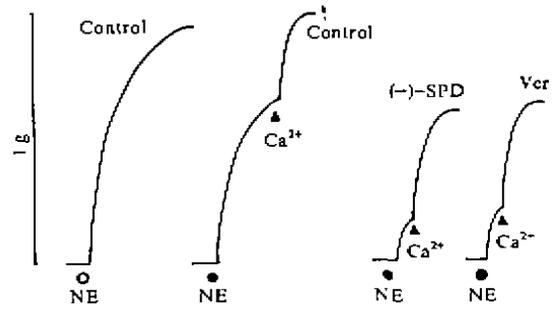


Fig 4. Effect of (-)-SPD ( $1\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) and Ver ( $1\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) on the 2 components of NE ( $1\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )-evoked contraction of rat aortic strips. (○) in Krebs medium. (●) in  $Ca^{2+}$ -free Krebs medium. (▲) adding  $Ca^{2+}$   $2.5\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  to the medium.

### DISCUSSION

前文应用麻醉犬和大鼠的血压为指标, 证明(-)-SPD 的降压作用优先通过突触前  $\alpha_2$  受体而实现<sup>(8)</sup>。本文应用大鼠和兔离体主动脉条进行试验, 证明(-)-SPD 拮抗 Clo 和 Phe 引起血管平滑肌收缩, 表现为竞争性拮抗效应; 应用利血平化兔胸主动脉条试验, 较小剂量 (-)-SPD 拮抗 Clo 引起主动脉条收缩作用显著地被减弱, 而(-)-SPD 对  $\alpha_1$  受体激动剂 Phe 引起主动脉条收缩作用的影响无明显变化, 由此推论较小剂量(-)-SPD 拮抗血管平滑肌收缩的作用部位主要在突触前  $\alpha_2$  受体, 支持前文所提出的论点<sup>(8)</sup>。

(-)-SPD 为何对 Clo, Phe 引起的血管平滑肌收缩表现为竞争性拮抗效应呢? 推测 (-)-SPD 通过激动突触前  $\alpha_2$  受体反馈性使 NE 释放减少, 只有增加外源性激动剂 Clo 或 Phe 的剂量才能引起同样强度的收缩, (-)-SPD 剂量愈大, 所需 Clo 或 Phe 也愈大, 表现为量-效曲线平行右移而最大效应不变, 这种拮抗机制属于不同部位受体间的功能性拮抗。

在利血平化免试验中, 大剂量(-)-SPD  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  对 Clo 或 Phe 的拮抗作用(Fig 2)可能属于  $\text{Ca}^{2+}$ 拮抗作用, 因(-)-SPD 能阻滞电位依赖性  $\text{Ca}^{2+}$ 通道, 抑制 NE 引起细胞内  $\text{Ca}^{2+}$ 的释放; (-)-SPD 阻滞  $\text{Ca}^{2+}$ 通道作用的敏感性弱于对  $\alpha$ 受体的影响, 因为(-)-SPD 作用于  $\text{Ca}^{2+}$ 通道的剂量较大( $pD_2$ 为 4), 而作用于  $\alpha$ 受体的剂量较小( $pA_2$ 为 6.96). (-)-SPD 的同类物(-)-THP 对  $\text{Ca}^{2+}$ 通道的阻滞作用也有相似的报告, 如对血管平滑肌<sup>(14)</sup>, 心肌<sup>(15)</sup>都显示出这样的作用特性, 由此可以把 THPB 的药理作用特性及敏感性分成 3 个层次, 其作用强度阻滞 DA 受体 > 激动突触前  $\alpha_2$ 受体 > 拮抗  $\text{Ca}^{2+}$ 通道, 这值得今后进一步研究.

**ACKNOWLEDGMENT** 降压试验得金正均教授的支持和王载礼同志的帮助.

#### REFERENCES

- 1 Chen Y, Chen YY, Song GQ, Wang HN. Studies on alkaloids in *Stephania* IV. Alkaloids in *Stephania intermedia*. *Chin Trad Herb Drugs* 1985; 16 : 1
- 2 Jin GZ, Wang XL, Shi WX. Tetrahydroprotoberberine — A new chemical type of antagonist of dopamine receptors. *Sci Sin [B]* 1986; 29 : 527
- 3 Jin GZ. (-)-Tetrahydropalmatine and its analogues as new dopamine receptor antagonists. *Trends Pharmacol Sci* 1987; 8 : 81
- 4 Jin GZ. Progress in studies of the pharmacology of *l*-tetrahydropalmatine and *l*-stepholidine. *Acta Pharm Sin* 1987; 22 : 472
- 5 Xu SX, Yu LP, Han YR, Chen Y, Jin GZ. Effects of tetrahydroprotoberberines on dopamine receptor subtypes in brain. *Acta Pharmacol Sin* 1989; 10 : 104
- 6 Shi WX, Chen Y, Jin GZ. Effect of *l*-stepholidine on rotational behavior in rats. *Acta Pharmacol Sin* 1984; 5 : 222
- 7 Zhang ZD, Jin GZ, Xu SX, et al. Effects of *l*-stepholidine on central nervous and cardiovascular system. *Acta Pharmacol Sin* 1986; 7 : 522
- 8 Xiong ZL, Sun Z, Jin GZ, Chen Y. Influences of *l*-stepholidine on blood pressure and its relation to  $\alpha$ -adrenoceptors. *Acta Pharmacol Sin* 1987; 8 : 497
- 9 Xiong ZL, Sun Z, Gao WX, Jiang XY. Study of hypotensive action induced by *l*-stepholidine. *Chin Pharmacol Bull* 1988; 4 : 39
- 10 Jin ZJ. The prospect of computer-assisted drug administration. *J Shanghai Sec Med Univ* 1989; 3 : 20
- 11 Van Rossum JM. Cumulative dose-response curves II. Technique for the making of dose-response curve in isolated organs and the evaluation of drug parameters. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1963; 143 : 299
- 12 Jin GZ, Xu J, Zhang FT, Yu LP, Li JH, Wang XL. Relevance of sedative-tranquilizing effect of *l*-tetrahydropalmatine to brain monoaminergic neurotransmitters. *Acta Pharmacol Sin* 1983; 4 : 4
- 13 Broekaert A, Godfraind T. A comparison of the inhibitory effect of cinnarizine and papaverine on the noradrenaline- and calcium-evoked contraction of isolated rabbit aorta and mesenteric arteries. *Eur J Pharmacol* 1979; 53 : 281
- 14 Sun F, Li DX. Effects of *l*-tetrahydropalmatine on isolated rabbit arterial strips. *Acta Pharmacol Sin* 1989; 10 : 30
- 15 Sun F, Li DX. Effects of *l*-tetrahydropalmatine on isolated guinea pig atria. *Chin Pharmacol Bull* 1989; 5 : 158